

**Untersuchungen zur Resorption
von α - und β -Lactose beim Menschen**

Heinrich Tammen

1964

VERLAG DER UNIVERSITÄT LEIDEN
1875
HOLLAND

Untersuchungen der Beschaffenheit
von - und 2-Lacton des Mannose

Inaugural Dissertation

zur Erlangung des Doctorgrades in der philosophischen
Fakultät
von
Johann Heinrich van der
den 18ten September 1875

verlegt von
H. J. van der
Leiden



AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

**Untersuchungen zur Resorption
von α - und β -Lactose beim Menschen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Heinrich Tammen
aus Carolinensiel

München 1963

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. R. BACHMANN

Tag der mündlichen Prüfung: 20.2.1964

MEINER MUTTER
UND MEINEM LEHRER HERRN DR. HUOBER
IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	5
II. Methodik	6
III. Ergebnisse	9
IV. Diskussion	12
V. Zusammenfassung	15
VI. Literaturverzeichnis	17
VII. Lebenslauf	18

I. EINLEITUNG

Mit Hilfe einer neuen, zuerst von Mehnert und Förster (1) beschriebenen Methodik, der sogenannten Kollidon-Clearance, ist es möglich geworden, Resorptionsprüfungen bei Mensch und Tier unter physiologischen Bedingungen durchzuführen und verschiedene Fehlerquellen, die anderen Prüfungsmethoden anhafteten, auszuschalten. Bei der Kollidon-Clearance wird neben der Prüfsubstanz, z.B. einem Zucker, gleichzeitig als sogenannte Kontrollsubstanz das nicht resorbierbare hochmolekulare und wasserlösliche Kollidon (Polyvinylpyrrolidon, Molekulargewicht ca. 30 000) verabreicht und aus der im Laufe des Versuchs sich ergebenden Änderung der Relation zwischen Prüf- und Kontrollsubstanz das Ausmaß der Resorption festgestellt.

Mit dieser Methodik wurde von Förster (2) die Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit, von Bailer (3) die Resorption von Lactose und von Geser (4) die Resorption von Galaktose bei Ratten geprüft. Förster (2) untersuchte außerdem mit Hilfe eines von Mehnert und Mitarbeitern (1) beschriebenen Doppelballonsonden-Verfahrens die Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit am Menschen, wobei er sich ebenfalls der Kollidon-Clearance bediente.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte nun sein, die Resorption von α -Lactose und von β -Lactose beim Menschen zu prüfen, wobei in Analogie zu den Versuchen von Bailer (3) auch der Einfluß einer lactosereichen Nahrung auf die Resorption geprüft, d.h. eine mögliche adaptative Steigerung der Lactaseaktivität im Darmepithel ermittelt werden sollte. Diese Untersuchungen wurden ebenfalls nach dem Prinzip der Kollidon-Clearance sowie mit Hilfe des Doppelballonsonden-Verfahrens durchgeführt.

II. METHODIK

Aus den insgesamt 44 Versuchspersonen, bei denen die Resorptionsprüfung erfolgreich durchgeführt wurde, wurden folgende vier Gruppen gebildet:

1. Resorption von α -Lactose (19 Versuchspersonen)
2. Resorption von β -Lactose (14 Versuchspersonen)
3. Resorption von α - und β -Lactose nach vorangehender, einwöchiger Verabreichung des entsprechenden Milchzuckers (6 Versuchspersonen)
4. Resorption von β -Lactose nach 3-wöchiger Verabreichung von β -Lactose (5 Versuchspersonen).

Die Versuchspersonen der Gruppe 3 erhielten eine Woche lang täglich 3x15 g α - oder β -Lactose. Nach einem Zeitraum von 24 Stunden, innerhalb dessen die Versuchsperson keine Lactose verabreicht bekam, wurde die Prüfung der Resorption von α - oder β -Lactose durchgeführt.

Die Versuchspersonen der Gruppe 4 erhielten drei Wochen lang täglich 50 g β -Lactose, bevor die Prüfung der Resorption von β -Lactose nach einem 24-stündigen lactosefreien Intervall zur Durchführung gelangte.

Für die Gewinnung des zu untersuchenden Darmsaftes wurde die dreiläufige, röntgenpositive Doppelballonsonde nach Bartelheimer (5) verwendet, die den nüchternen Versuchspersonen unter Röntgenkontrolle gelegt wurde. Sobald der distale Ballon die Flexura duodenojejunalis passiert hatte, war anzunehmen, daß auch der proximale Ballon den Magen verlassen hatte. Der Abstand der beiden Ballons betrug ca. 14 cm. Die beiden Ballons wurden aufgeblasen mit mindestens 40 ccm Luft, bis der Proband einen leichten Druckschmerz verspürte. Die Ballons wurden in ihrer Lage nicht mehr verändert. 5 g Lactose und 5 g Kollidon wurden in 50 ml vorgewärmtem Wasser gelöst, durch die Sonde in den abgesperrten Darmbezirk verabreicht und mit 50 ml physiologischer Kochsalzlösung und ca. 30 ml Luft nachgespült.

Nach 5 und 15 Min. wurden jeweils 30 ml aus dem abgesperrten Darmbezirk abgesaugt, davon wurden ca. 27 ml wieder zurück-

gegeben, der Rest wurde für die chemische Analyse verwendet. Um die in der Sonde noch befindliche Lösung dem Darm wieder zuzuführen, wurde die Sonde mit 30 ml physiologischer Kochsalzlösung und mit 30 ml Luft nachgespült.

Nach 30 Min. wurde der ganze Inhalt des abgesperrten Bezirks entnommen, 1-3 ml wurden der chemischen Analyse zugeführt.

Chemische Nachweise

a) Nachweis des Kollidons, modifiziert nach Schubert (6).

1-2 ml des gewonnenen Darmsaftes werden je nach der zu erwartenden Konzentration mit 10-25 ml aqua destillata verdünnt. Davon werden 2 ml mit 5 ml Jodjodkalilösung (0,08 mol. KJ ; 0,01 mol. Jodsublimat) versetzt. Es tritt Farbvertiefung durch Bildung eines Kollidonjodkomplexes auf. Dieser Komplex wird mit 5 ml 10 %iger Salzsäure ausgefällt, zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Der Niederschlag wird mit 25 ml Methylalkohol aufgenommen, und die Farbintensität am Photometer Eppendorf bei 436 nm gemessen. Die Ablesung muß sofort geschehen, weil der Kollidonjodkomplex an Farbintensität verliert. Die abgelesenen Werte werden mit einer Eichkurve verglichen.

b) Nachweis von Lactose

2 ml der verdünnten Darmflüssigkeit werden mit 4 ml 18 %iger Perchlorsäure gekocht. Nach 3/4 Stunde ist das Eiweiß gefällt und die vorhandene Lactose ist in ihre Bestandteile Glucose und Galaktose gespalten. Es wird zentrifugiert und 0,1 ml für den Nachweis abpipettiert. Der Nachweis der Glucose erfolgt nach der von Keilin (7) und Hartree entwickelten und von Teller (8) und Keston (8) verbesserten Methode. (Boehringer Testverfahren). Sie beruht auf der von der Glucoseoxydase katalysierten Oxydation der Glucose zu Glucuronsäure, wobei Wasserstoffperoxyd entsteht. In Anwesenheit von Peroxydase oxydiert Peroxyd O-Dianisidin-Hydrochlorid zu einem rotbraunen Farbstoff, der bei 436 nm kolorimetriert werden kann. Die Konzentration des Farbstoffs ist ein Maß für die anwesende Glucose. Wir verwendeten 0,1 ml enteiweißte Flüssigkeit auf 5 ml des gelieferten Glucosereagens (Boehringer).

Kritik

Das beschriebene Doppelballonsondenverfahren legt das Angebot auf einen fixierten Darmabschnitt fest. Die resorbierende Darmoberfläche bleibt damit annähernd gleich. Es besteht die Möglichkeit, daß zwischen den Ballons und der Darmwand Flüssigkeit hindurchtritt. Dadurch können die Ergebnisse wesentlich beeinflusst werden. Da aber bei unserer Versuchsanordnung nicht nur die Prüfs substanz, sondern auch die Kontrollsubstanz an den Ballons vorbeistreten würde, bleibt die Relation beider Substanzen zueinander doch erhalten. Der Fehler wird durch die Art der angewendeten Methode korrigiert. Förster (2) wies bei Versuchen, das Kollidon quantitativ zurückzugewinnen, nach, daß der Verschluß durch die beiden Ballons als gut bezeichnet werden kann.

Etwaige, noch in der Sonde befindliche Flüssigkeitsreste stehen dem Darm nicht zur Resorption zur Verfügung. Um den daraus resultierenden Fehler zu umgehen, saugten wir zwar mindestens 30 ml ab, verwendeten jedoch davon nur 2-3 ml zur chemischen Analyse und gaben den Rest in den Darm zurück. Die entnommene Menge von 2-3 ml, die nicht mehr zur Resorption gelangt, ist gering und kann vernachlässigt werden. Nach Entnahme der Proben wurde die Sonde mit 30 ml physiologischer Kochsalzlösung nachgespült, um den Rest der in der Sonde befindlichen Zuckerlösung in den Darmabschnitt zu bringen. Damit wurde der im Darm befindliche Zucker verdünnt.

Um eine zu große Änderung der osmotischen Druckverhältnisse zu umgehen, verwendeten wir zum Nachspülen physiologische Kochsalzlösung. Die verabfolgten Flüssigkeitsmengen ergeben folgende Veränderung der 5 %igen Lösung der Prüfs substanz bei gleichbleibendem osmotischen Druck:

0- 5 Min.	5 %
5-15 Min.	3,9 %
15-30 Min.	3,1 %.

Ergebnisse von Versuchen, in deren Verlauf die Sonde ganz oder teilweise in den Magen zurückglitt oder andere technische Fehler eintraten, wurden verworfen.

III. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen werden im folgenden in Form von 1 Tabelle und 1 Abbildung wiedergegeben.

Folgende Abkürzungen gelten für die Tabelle:

n	■	Zahl der Versuche
$\bar{x}$	■	Mittelwert
s	■	Standardabweichung
$s_{\bar{x}}$	■	Streuung

T A B E L L E

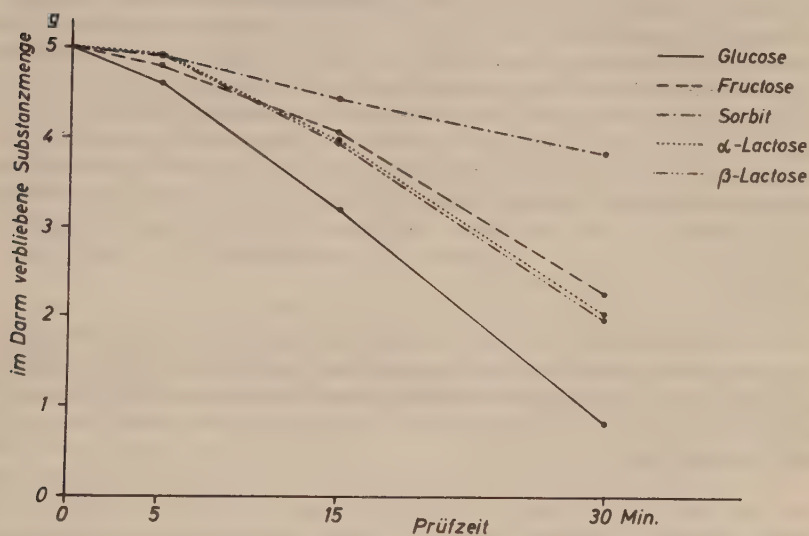
Die Resorption von 5g α - oder β -Lactose (5 %ige Lösung) in einem mit einer Doppelballonsonde abgeschlossenen Dünndarmsegment des Menschen nach 5, 15 und 30 Minuten.

+ Die Versuchspersonen dieser Gruppe nahmen eine Woche lang täglich 50g α - oder β -Lactose zu sich.

++ Die Versuchspersonen dieser Gruppe nahmen drei Wochen lang täglich 50g β -Lactose zu sich.

Prüfsubstanz	Resorptionsdauer 5 min			Resorptionsdauer 15 min			Resorptionsdauer 30 min		
	$\bar{x}$	s	$\frac{s}{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$\frac{s}{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$\frac{s}{\bar{x}}$
a-Lactose									
5 %ige Lösung									
Darmangebot	5,0g								
davon resorbiert	0,063g	0,052	0,012	1,01g	0,285	0,067	2,93g	0,51	0,12
	($\approx 1,26\%$)		n=19	($\approx 20,2\%$)		n=19	(0,58, 6%)		n=19
β -Lactose									
5 %ige Lösung									
Darmangebot	5,0g								
davon resorbiert	0,075g	0,15	0,041	1,04g	0,375	0,103	3,00g	0,679	0,188
	($\approx 1,5\%$)		n=14	($\approx 20,8\%$)		n=14	($\approx 60,0\%$)		n=14
a- oder β -Lactose									
jeweils 5 %ige Lösungen									
Darmangebot	5,0g								
davon resorbiert	0,01g	0,077	0,094	1,25g	0,302	0,13	3,03g	0,212	0,094
	($\approx 0,2\%$)		n=6	($\approx 25,0\%$)		n=6	($\approx 60,6\%$)		n=6
++									
β -Lactose									
5 %ige Lösung									
Darmangebot	5,0g								
davon resorbiert	0,16g	0,067	0,0335	1,29g	0,425	0,212	2,79g	0,19	0,095
	($\approx 3,2\%$)		n=5	($\approx 25,8\%$)		n=5	($\approx 55,8\%$)		n=5

Die duodenale Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit
sowie von α - und β -Lactose.



IV. DISKUSSION

Die mit Hilfe des Doppelballonsonden-Verfahrens und der Kollidon-Clearance gewonnenen Ergebnisse der Lactoseresorption stimmen insofern mit den tierexperimentellen Befunden von Bailer (3) überein, als auch gemäß unserer Resultate der Milchzucker relativ langsam und im gleichen Verhältnis wie bei den Tierversuchen resorbiert wird. Aus der vergleichenden Abbildung 1 ist zu ersehen, daß -wie es schon Bailer (3) bei der Lactoseresorption für Ratten feststellte- Milchzucker schneller als Sorbit, jedoch langsamer als Glucose und Fructose resorbiert wird. Die mit der gleichen Methodik gewonnenen Werte für die Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit wurden der Arbeit von Förster (2) entnommen. Auch den von Bailer (3) sowie von Geser (4) bei Ratten erhobenen Befund, daß zwischen der Resorptionsgeschwindigkeit von α - und β -Lactose kein Unterschied besteht und daß auch eine kürzere oder längere Verfütterung dieser Milchzucker ohne Einfluß auf die Resorptionsgeschwindigkeit und damit auf die adaptative Lactasebildung ist, konnten wir bestätigen.

Der Einwand, daß unsere Untersuchungen nur einen kleinen Teilabschnitt des Dünndarms, nämlich das Duodenum berücksichtigen und damit nicht repräsentativ für das Verhalten der Lactoseresorption im ganzen Dünndarm sind, kann durch folgende Überlegungen entkräftet werden:

Einmal können solche Untersuchungen am Menschen -anders als die erwähnten Tierexperimente- stets nur so vorgenommen werden, daß eine relative und nicht eine absolute Aussage über das Ausmaß der Lactoseresorption gemacht wird. Zum anderen ergibt sich aber, auch bei dem oben angeführten Vergleich zwischen den bisher durchgeführten tierexperimentellen Untersuchungen und den Resorptionsprüfungen am Menschen, daß mit dieser Methode eine Aussage über die Lactoseresorption gemacht werden kann. Es zeigte sich nämlich, wie erwähnt, daß sich bei beiden Spezies ähnliche Verhältnisse hinsichtlich der Resorptionsgeschwindigkeit verschiedener Zucker zeigen, was für die Brauchbarkeit der Untersuchungsmethode am Menschen spricht.

Schließlich ist noch zu dem Einwand Stellung zu nehmen, daß -bei verschieden starker Resorption der Lactose in verschiedenen Darmabschnitten- das Duodenum sich als ungeeignet erweisen könnte.

Während man für aktiv resorbierbare Monosaccharide sowie für passiv resorbierte Substanzen, wie z.B. den Zuckeralkohol Sorbit, keine derartigen Befürchtungen zu haben braucht, liegen nämlich die Verhältnisse für die Disaccharide in der Tat anders. Für diese Zucker sind, wie Cajori (9) am Hund, Heilskov (10) am Kaninchen, menschlichen Foet und an der Kuh und Ammon (11) und Hennig (11) am Kaninchen zeigen konnten, Disaccharidasen im Darmepithel über den ganzen Dünndarm hinweg an durchaus verschiedenen Stellen mehr oder weniger stark lokalisiert. Diese Enzyme, die sich z.B. als Invertase, Maltase und Isomaltase vorwiegend im unteren, und als Lactase, Trehalase und Cellobiase fast ausschließlich im oberen Dünndarm finden, bestimmen entscheidend das Ausmaß der Resorption der in den Darm gelangenden Disaccharide. Gemäß der Untersuchungen von Dahlquist (12) werden diese Zucker zunächst in das Darmepithel aufgenommen, um dort hydrolytisch gespalten zu werden. Aufgrund dieser Untersuchungen findet sich bei Säugetieren besonders im Darmepithel des oberen Jejunum und unteren Duodenum die stärkste Lactaseaktivität.

Dies stimmt überein mit den erwähnten tierexperimentellen Untersuchungen von Bailer (3), der bei Ratten die mit der Kollidon-Clearance geprüfte Lactoseresorption ebenfalls vorwiegend in diese Bereiche lokalisieren konnte, sowie mit neuesten von Dahlquist mitgeteilten Befunden der Lactoseresorption beim Menschen, über die unten noch zu sprechen sein wird. Lediglich Hirata (13) berichtet über eine nach caudal zunehmende Lactaseaktivität im Rattendarm. Alles in allem darf man jedoch sagen, daß der von uns gewählte Ort für die Prüfung der Lactoseresorption, nämlich das Duodenum, den günstigsten Bedingungen im Hinblick auf die besonders hohe Lactaseaktivität im Darmepithel entspricht. Wenn Disaccharide bei solchen Untersuchungen geprüft werden, sollte man sich jedoch stets der Schwierigkeit bewußt sein, welche die durchaus verschiedene Lokalisierung der für die Resorption wichtigen Enzymsysteme bei der Deutung der Befunde mit sich bringt.

Wie oben erwähnt, führte Dahlquist in jüngster Zeit Untersuchungen über die Lactoseresorption beim Menschen durch. Die Disaccharide Saccharose, Maltose und Lactose wurden in einer Testmahlzeit zusammen mit Fett, Eiweiß und Polyäthylenglycol als Leitsubstanz verabreicht. Durch eine Sonde wurden Proben aus dem Darmlumen entnommen. Es wurde die hydrolytische Spaltung im Lumen verglichen mit der Resorption. Festgestellt wurde eine sehr beschränkte Hydrolyse der Disaccharide im Darmsaft trotz sehr rascher Resorption. Daraus folgt daß die untersuchten Disaccharide

ohne Hydrolyse resorbiert werden. Die Hydrolyse erfolgt offenbar nach der Resorption intrazellulär. Eine hydrolytische Spaltung der Lactose mit der im Darmsaft enthaltenen Lactase würde 100 Stunden dauern, während die Resorption der Lactose nach 4 Stunden schon vollständig beendet war. Das größte Ausmaß der Lactoseresorption fand Dahlquist im Duodenum und im proximalen Jejunum. Hier findet man, wie erwähnt, die stärkste Lactaseaktivität in der Schleimhaut. Aus unseren Untersuchungen kann man nicht nur Anhaltspunkte für die Stellung der Lactose hinsichtlich ihrer Resorptionsgeschwindigkeit bei einem Vergleich mit anderen Zuckern gewinnen (vgl. Abb. 1), sondern auch zu Experimenten von Nörtemann (14) Stellung nehmen.

Dieser Autor bestätigte die schon früher diskutierten, aber mit verfeinerten, bakteriologischen Methoden noch nicht nachgewiesenen Befunde, daß es bei Patienten, die peroral β -Lactose erhielten, in einem stärkeren Ausmaß zur Stimulierung des Wachstums der Laktosebazillenflora kommt, als wenn an Stelle der β -Lactose α -Lactose verabreicht wird. Die Vermutung, daß dieses Phänomen auf eine verschiedene Resorptionsgeschwindigkeit beider Milchzucker zurückzuführen ist, und daß etwa die β -Lactose langsamer resorbiert, tiefer in den Darm gelangen und damit die Laktobazillenflora mehr beeinflussen würde, läßt sich auf Grund unserer Untersuchungen nicht bestätigen. Eine solche Möglichkeit schien allerdings schon auf Grund der schnell einsetzenden Mutarotation kaum denkbar zu sein, eine Erklärung der Nörtemann'schen Befunde kann auf Grund unserer Untersuchungen nicht gegeben werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war, die Resorption von α - und von β -Lactose mit und ohne Verfütterung dieser Zucker am Menschen zu prüfen. Dabei kam eine neuartige Methodik, die sogenannte Kollidon-Clearance, zur Anwendung, mit deren Hilfe aus der Änderung der Relation zwischen Prüfsubstanz und gleichzeitig verabreichter Kontrollsubstanz (Kollidon) das Ausmaß der Resorption ermittelt werden konnte. Die Prüfungen beschränkten sich auf das Duodenum und wurden mit einem Doppelballonsondenverfahren bei 44 Versuchspersonen durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß hinsichtlich der Resorption von α - oder β -Lactose keine Unterschiede bestehen. Beide Lactoseformen werden relativ langsam resorbiert. Eine Beschleunigung der Resorption nach Vorfütterung des Milchezuckers ließ sich nicht feststellen, sodaß in Analogie zu Tierversuchen nicht mit einer adaptativen Steigerung der Lactaseaktivität gerechnet werden kann. Die Ergebnisse wurden anhand des vorliegenden Schrifttums besprochen.

Herrn Professor Dr. K. STUHLFAUTH
bin ich für die Überlassung des Themas,
Herrn Dr. H. MEHNERT für sein
großes Entgegenkommen und seine Hilfe
zu großem Dank verpflichtet.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Mehnert, H. u. H. Förster:
Klin. Wschr., 39, 596 (1961)
2. Förster, H.:
Med. Inaug. Dissert. 1962 (im Druck)
3. Bailer, H.:
Med. Inaug. Dissert. 1963 (im Druck)
4. Geser, K. A.:
Med. Inaug. Dissert. 1963 (im Druck)
5. Mehnert, H., K. Stuhlfauth, B. Mehnert, R. Lausch u. W. Seitz:
Klin. Wschr., 37, 1138 (1959)
6. Schubert, R. u. H. Werner:
Z. ges. exp. Med., 131, 90 (1959)
7. Keilin, D. u. E. F. Hartree:
Biochem. J., 39, 293 (1945), 42, 230 (1948)
8. Teller, J. D.:
Abstr. Amer. Chem. Soc. 130th Meeting
69c, 1956
9. Cajori, F. A.:
J. biol. Chem. 109, 159 (1935)
10. Heilskov, N. S. C.: Acta physiol. scand., 24, 84 (1951)
11. Ammon, A. u. U. Hennig:
Dtsch. Z. Verdau.-Stoffwechselkr., 16, 193
(1956)
12. Dahlquist, A.:
Biochem. J., 78, 282 (1961)
13. Hirata, Y.:
Paediatrica Japonica Nr. 1, May 1958, S. 67
14. Nörtemann, F.:
Med. Inaug. Dissert. 1962 (im Druck)

VII. LEBENSLAUF

Am 13.1.1935 wurde ich, Karl Heinrich Johannes Tammen als zweiter Sohn des Pastors Renko Rammen und seiner Ehefrau Agnes, geb. Kübel, in Carolinensiel, Ostfriesland geboren.

Dort besuchte ich von 1942 bis 1946 die Volksschule, in Jever anschließend bis 1955 das Mariengymnasium.

Nach dem Abitur belegte ich ein Semester an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen. Danach absolvierte ich eine zweijährige landwirtschaftliche Lehre auf Gut Bodenstein am Harz.

Mit dem Wintersemester 1957/58 begann ich das Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. 1960 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab.

Am 17.1.1964 beendete ich mein Medizinstudium mit dem Staatsexamen.



